

BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Off nlegungsschrift**
⑪ **DE 3328712 A1**

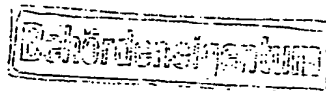
⑤ Int. Cl. 3:
C12M 1/02
C 12 M 1/08

⑳ Aktenzeichen: P 33 28 712.0
㉑ Anmeldetag: 9. 8. 83
㉒ Offenlegungstag: 21. 2. 85

DE 3328712 A1

1) Anmelder:
Märkl, Herbert, Dr.-Ing., 8047 Karlsfeld, DE

㉓ Erfinder:
gleich Anmelder



rüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

4) Folienfermenter

Folienfermenter für die Anzucht von Mikroorganismen oder von Zell- bzw. Gewebekulturen, ausgeführt als Folienschlauch, der beidseitig verschlossen und aufgehängt ist und der an jedem Ende durch einen kreisrunden Deckel abgeschlossen ist, so daß sich ein zylindrischer Raum bildet. Dem Folienschlauch ist ein genau angepaßter Stahlmantel zugeordnet, der bei der »in-situ«-Sterilisation an den zylindrischen Schlauch anlegbar ist und damit den Schlauch stützt.

Privatdozent
Dr.-Ing. H. Märkl
Karl-Valentinstr. 17
8047 Karlsfeld

83/16730

3328712

Patentansprüche

- 1.) Folienfermenter für die Anzucht von Mikroorganismen oder von Zell- bzw. Gewebekulturen, ausgeführt als Folienschlauch, der beidseitig verschlossen und aufgehängt ist,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

der Folienschlauch (1) an jedem Ende durch einen kreisrunden Deckel (3,4) abgeschlossen ist, so daß sich ein zylindrischer Raum bildet (Fig.2).

- 2.) Folienfermenter nach Patentanspruch 1,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

der dem Folienschlauch (1) ein ihm genau angepaßter Stahlmantel (6) zugeordnet ist, der bei der "in situ"-Sterilisation an den zylindrischen Schlauch anlegbar ist und damit den Schlauch stützt (Fig. 3).

- 3.) Folienfermenter nach Patentanspruch 1 und 2,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

jeder Deckel (32) an seinem Rand eine Aussparung zur Aufnahme von zwei elastischen Ringen (35,36) (O-Ringe) aufweist, die übereinander liegen und zwischen sich unter Einwirkung eines andrückbaren Halteringes (33) den Folienschlauch (31) dicht mit dem Deckel verbinden (Fig. 7).

4.) Folienfermenter nach Patentanspruch 3,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

der Außendurchmesser des den Folienschlauch(31)
unmittelbar spannenden elastischen Ringes (36)
etwas größer ist als der Innendurchmesser des
Folienschlauches, der beim Einbau etwas gedehnt
wird und faltenfrei am elastischen Ring (36)
anliegt.

5.) Folienfermenter nach Patentanspruch 1 - 4,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

der Folienfermenter als Schlaufenreaktor aus-
gebildet ist (Fig. 5).

6.) Folienfermenter nach Patentanspruch 1,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

der den Folienschlauch bei einer Sterilisation
stützende Stahlmantel aus zwei Halbschalen (41)
besteht, die durch Paß-Stifte (44) zu einem
exakten Zylinderrohr zusammenfügbar sind (Fig.8).

7.) Folienfermenter nach Patentanspruch 6,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

die Halbschalen (41) durch Halteringe (42)
zusammengehalten sind (Fig. 8).

8.) Folienfermenter nach Patentanspruch 1,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

beim Einsatz der Folienfermenter in der technischen Produktion ein klimatisierter Raum (24) vorgesehen ist, in dem die einzelnen Fermenter an der Decke an einem Transportband aufgehängt sind, durch das sie von einer Eingangsstelle (21) mit Sterilisation zu einer Ausgangsstelle (23) gebracht werden (Fig.6).

9.) Folienfermenter nach Patentanspruch 1,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

als Material für den Folienschlauch ein Polyamid dient, das bei den bei der Sterilisation auftretenden Beanspruchungen (hoher Druck, hohe Temperatur) funktionsfähig bleibt.

10.) Folienfermenter nach Patentanspruch 1,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

die Dicke der Fermenterfolie bestimmt ist durch die

Formel:
$$s = 0.43 \frac{H \cdot D \cdot \rho \cdot g}{\sigma_v} \cdot F$$

wobei bedeutet:

H = Höhe des Folienfermenters

D = Durchmesser "

ρ = Dichte des Fermenterinhalts

g = Erdbeschleunigung

σ_v = Reißspannung der Folie

F = Sicherheitsfaktor

3328712

11.) Folienfermenter nach Patentanspruch 1,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , d a ß

der Deckel aus Edelstahl besteht.

Privatdozent
Dr.-Ing. H. Märkl
Karl-Valentin-Str. 17
8047 Karlsfeld

- 5.

83/18738 3328712

Folienfermenter

Die Erfindung betrifft einen Folienfermenter für die Anzucht von Mikroorganismen oder von Zell- bzw. Gewebekulturen. Derartige Fermenter werden üblicherweise aus Edelstahl hergestellt. Die Festigkeit des Behälters hat sich dabei nach den Sterilisationsbedingungen (Sattedampf Wasser 121°C, 1,2 bar Überdruck, 0,5 h) zu richten. Aus Sicherheitsgründen empfiehlt die DECHEMA-Betreibernorm ("Arbeitsmethoden für die Biotechnologie", November 1982) die Auslegungstemperatur von 143°C und den Auslegungsdruck von 4 bar. Die Innenflächen sind möglichst reinigungsfreundlich auszubilden und auf Korn 240 zu bearbeiten.

Für Laborzwecke werden auch sogenannte "Glasfermenter" (übliche Reaktorgrößen 2 bis 200 l) eingesetzt. Hier wird ein serienmäßig (Fa. Schott, Quickfit) erhältliches Glasrohr mit einem Boden und einem Deckel aus Edelstahl versehen. Alle Antriebselemente, Meßinstrumente sowie Zu- und Abführungsleitungen werden durch diese Stahlteile geführt. Verglichen mit Ganzstahlfermentern haben Glasfermenter den Vorteil der visuellen Beobachtungsmöglichkeit. Darüberhinaus können Glasfermenter auch für die Anzucht photosynthetischer Kulturen eingesetzt werden, da der Reaktorinhalt von außen leicht zu beleuchten ist. Nachteilig ist ein hohes Sicherheitsrisiko bei der "in situ"-Sterilisation (ohne Autoklaven bei gefülltem Fermenter), da ein bei 121°C mit Innendruck belasteter Glasbehälter schon bei geringfügigen Verletzungen des Glasmantels bersten kann. Die heute angebotenen Berstschutzmäntel, die für die Sterilisation verwendet werden, bieten aber keinen ausreichenden

Schutz gegen freiwerdende Glassplitter sowie den Heißdampf (vgl.ACHEMA-Bericht "Biotechnologie", Chem.-Ing.-Techn. 54 (1982) Nr. 12, S. 1132-1138, insb. S. 1135).

Für biologische Reaktionen, die langsam ablaufen und die deshalb einen nur geringen Gasbedarf (Sauerstoff bei aeroben, CO_2 bei photosynthetischen Organismen) haben, sind Rührorgane in den Fermentern nicht notwendig. Solche langsam wachsenden Kulturen sind beispielsweise Pflanzenzellkulturen. Wegen der niedrigen Wachstumsgeschwindigkeit ist bei diesen Kulturen ein großes Reaktionsvolumen notwendig, dessen volumenbezogene Kosten möglichst niedrig sein sollen. Für diesen Zweck ist nun von Trotta (vgl. "Algae Biomass", G. Shelef and C.J. Soeder, Editors, 1980 Elsevier/North-Holland Biomedical Press, S. 307-313, insb. S. 308) ein Fermenter entwickelt worden (Fig.1), der aus einem Folienschlauch (Polyäthylen) mit einem Durchmesser von 30 cm und einer Länge von 1 bzw. 2 m besteht. Die Wandstärke des Folienschlauches beträgt 0.3 mm beim kleineren und 0.6 mm beim größeren Behälter (Doppelfolie). Der Folienschlauch ist durch Zusammendrücken längs einer geraden Linie verschlossen und wird an der oberen Verschlussklemme über ein Seil an der Raumdecke aufgehängt. Im jeweils oberen bzw. unteren Bereich des Kulturbedälters kann über einen eingeklebten Polyäthylenschlauch dem Behälterinnenraum wahlweise Flüssigkeit oder Gas zugeführt bzw. entnommen werden. Weitere Einbauten sind nicht vorgesehen. Die angegebenen Kulturbedälter dienen der nichtsterilen Anzucht photoautotropher Mikroalgen bzw. von Rädertierchen (rotifers). Dieser Folienschlauch hat aber den entscheidenden Nachteil, daß er nicht "in situ" sterilisierbar ist, da die Folie den dabei auftretenden Innendruck nicht aufnehmen kann. Die Anordnung kann deshalb nur für die

Anzucht von mit rein anorganischer Nährlösung versorgten Algen herangezogen werden, bei denen eine Sterilisation nicht notwendig ist. Bei Pflanzenzellkulturen werden jedoch in der Regel organische Nährlösungsbestandteile eingesetzt. Die Sterilisation ist dann nicht zu umgehen. Außerdem besteht bei diesem bekannten Folienfermenter keine Möglichkeit, die bei üblichen Fermentern vorgesehenen Einbauten, z.B. eine pH-Sonde, unterzubringen.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, einen Folienfermenter zu schaffen, der "in situ" sterilisierbar ist und die Verwendung genormter Meßsonden und anderer Einbauten ermöglicht. Gemäß der Erfindung ist diese Aufgabe durch die in den Patentansprüchen gekennzeichneten Maßnahmen gelöst.

Auf den beigefügten Zeichnungen sind Ausführungsbeispiele der Erfindung dargestellt. Es zeigen:

- Fig. 2 einen erfindungsgemäßen Folienfermenter im Schnitt,
- Fig. 3 den zugehörigen Stahlstützmantel,
- Fig. 4 die Anwendung als Blasensäule,
- Fig. 5 die Anwendung als Schlaufenreaktor,
- Fig. 6 ein Produktionsbeispiel,
- Fig. 7 einen Deckel mit den O-Ringen,
- Fig. 8 den Stahlstützmantel, vergrößert.

Gemäß Fig. 2 ist ein Folienfermenter als Folienschlauch ausgebildet, der mit Hilfe elastischer Gummiringe (O-Ringe 2, Material beispielsweise Viton) mit einem entsprechend ausgebildeten Stahl-Boden 4 bzw. Stahl-Deckel 3 fest verbunden ist.

In dem oberen Deckel 3 können Meßsonden (pH-Sonde, Redox-Sonde, p_{O_2} -Sonde, Turbidostatsonde), die Animpfstutzen, pH-Regulationstutzen, Abluftkühler und eventuell ein Überdruckventil untergebracht sein. Der untere Deckel-Boden 4 kann die Zuführeinrichtung 5 für die Begasung, Kühleinrichtung, Heizeinrichtung, Temperaturmeßfühler, Ablassventil und, wenn notwendig, ein Probeentnahmeventil enthalten. Zu den Deckel-Einbauten zählen beispielsweise auch die Gasverteil-einrichtung bzw. das Einsteckrohr (vgl. Fig.5).

Der auf diese Weise gebildete Folienschlauch stellt ein exakt zylinderförmiges Gebilde dar, das bei der Sterilisation mit Hilfe eines Stahlmantels 6 (Fig.3) gestützt wird. Eingesetzt wird eine durchsichtige PA-Folie (Schmelztemperatur 170 bis 220°C). Die Foliendicke kann nach einer nachstehend noch angegebenen Auslegungsgleichung bestimmt werden. Die Instrumentierung kann, wie bei Glasfermentern, durchgeführt werden. Es ist ein Betrieb als Blasensäule 7 (Fig.4) bzw. Schlaufenreaktor 8 (Fig.5) vorgesehen. In beiden Fällen erfolgt die Gaszufuhr über einen Gaskompressor 9, ein Sterilfilter 10 und einen Gasverteiler 11. Oben entweicht die Abluft 12. Bei dem Schlaufenreaktor gemäß Fig.5 ist noch ein Einsteckrohr 13 zur Erzielung einer definierten Umlaufströmung vorgesehen.

Die Sterilisation erfolgt in der Regel mit Hilfe des ohnehin in jedem Fermenter eingebauten Temperaturregelsystems. Voraussetzung ist, daß die eingesetzten Heizelemente entsprechend stark ausgelegt sind, um ein Hochheizen des Fermenterinhalt auf 121°C im Zeitraum von etwa 30 Minuten zu ermöglichen. Die Sterilisationstemperatur von 121°C wird über einen Zeitraum von 30 Minuten gehalten. Anschließend wird der Fermenterinhalt auf Betriebsbedingungen abgekühlt. Es ist

hierbei nützlich, wenn im unteren Deckel (Boden) des Fermenters eine Kühlmöglichkeit vorgesehen ist. Steht kein Temperaturregler zur Verfügung, so genügt auch eine Heizeinrichtung in Verbindung mit einem am oberen Deckel angebrachten Sicherheitsventil, das auf einen Überdruck von 1,2 bar eingestellt ist (Dampfkochtopfprinzip).

Folienfermenter können als Laborreaktoren eingesetzt werden, da sie ähnlich wie Glasreaktoren den Vorteil der durchsichtigen Außenwand haben. Besonders günstig ist jedoch - wegen der geringen volumenbezogenen Fermenterkosten - der Einsatz in der technischen Produktion, etwa nach dem in Fig.6 angegebenen Schema. Danach ist eine größere Anzahl von Folienfermentern 22 in einem klimatisierten Raum 24 untergebracht, so daß eine Thermostatisierung des einzelnen Fermenters entfallen kann. Die einzelnen Fermenter sind an der Decke an einem Transportband 29 aufgehängt und können von der Position Pos. 21 zur Position Pos.23 transportiert werden. Die Transportzeit entspricht der notwendigen Kulturzeit. Die Folienfermenter werden in der Position Pos.21 sterilisiert. In der Position Pos.23 erfolgt die Ernte und danach die Aufarbeitung. Nach Abernten werden die verbrauchten Folien einer Verwertung 26 zugeführt, die Deckel und Böden werden in 25 gereinigt, über 27 in die Ausgangsposition Pos.21 gebracht und zusammen mit einer neuen Folie 28 zu einem neuen Folienfermenter zusammengeführt.

Die Folienhalterung am Deckel ist in Fig.7 vergrößert dargestellt. Die den Fermentationsraum 37 umhüllende Folie 31 muß am oberen und unteren Ende je an einem Deckel 32 befestigt werden, so daß ein von der Umwelt hermetisch abgeschlossener Raum entsteht. Es hat sich als zweckmäßig erwiesen, die Folie durch Einklemmen der Folie zwischen zwei O-Ringe 35 und 36 am Deckel festzuhalten. Die eigentliche Abdichtung erfolgt am

O-Ring 36, da aufgrund des Gewichts des gefüllten Folienfermenters die Folie 31 an den O-Ring 36 ange-
drückt wird. Der O-Ring 35 wird durch einen Halte-
ring 33 auf den O-Ring 36 gedrückt. Hierdurch wird
die dazwischenliegende Folie 31 festgehalten.

Der Außendurchmesser des O-Ringes 36 sollte etwas
größer sein als der Innendurchmesser des Folien-
schlauches 31 (im Ausführungsbeispiel ist der Innen-
durchmesser des Folienschlauches 200 mm, der Außen-
durchmesser des O-Ringes 205 mm). Auf diese Weise
wird der Folienschlauch beim Einbau etwas gedehnt und
eine Faltenbildung der Folie an der Dichtfläche zu-
verlässig verhindert.

Der Stahlstützmantel für die "in situ"-Sterilisation
ist in Fig.8 vergrößert gezeigt. Bei der "in situ"-
Sterilisation tritt im Inneren des Folienfermenters
ein Überdruck von ca. 1,2 bar auf. Deswegen muß
während der Sterilisation die Folie 45 abgestützt
werden.

Der Stahlstützmantel besteht aus zwei Halbschalen 41,
die durch Paßstifte 44 zu einem exakten Zylinderrohr
zusammengefügt werden können, so daß sie die Folie 45
eng umschliessen. Die beiden Halbschalen 41 werden
durch Halteringe 42 mit jeweils 6 am Umfang verteilten
Schrauben 43 zusammengehalten. Die in axialer Richtung
auf die Deckel 40 wirkende Kraft wird durch einen
Vorsprung 46 des Stützmantels aufgefangen. Ein für Test-
zwecke ausgeführter Stahlstützmantel hat z.B. eine
Gesamtlänge von 0.6 m, einen Innendurchmesser von
205 mm für einen Folienschlauch-Durchmesser von 200 mm.
Insgesamt sind 4 Halteringe 42 angebracht.

M.

Abschließend seien die Vorteile des erfindungsgemässen Folienfermenters gegenüber herkömmlichen Fermentern zusammengefaßt:

- Niedriger Herstellungspreis, nur zwei einfache Edelstahlteile sind notwendig; die Kosten für die Folie können vernachlässigt werden
- Gefahrlose Sterilisation (keine Glassplitter)
- Durchsichtige Außenwand, Einsatzmöglichkeit für photosynthetische Reaktionen
- Einfache Reinigungsmöglichkeit der wiederverwendbaren Teile.

Zur Abschätzung der notwendigen Foliendicke gelten die nachstehenden Überlegungen unter Anwendung der folgenden Bezeichnungen:

- H = Höhe des Folienreaktors
- D = Durchmesser des Reaktors
- s = Wandstärke der Folie
- ρ = Dichte des Reaktorinhalts
- g = Erdbeschleunigung
- σ = Zugspannung

Zugspannungen innerhalb der Folie treten in axialer und in tangentialer Richtung auf:

1. Eine Spannung in axialer Richtung entsteht infolge des Reaktorgewichtes

$$\sigma_{ax} = \frac{H \cdot D \cdot \rho \cdot g}{4s}$$

Das Gewicht des unteren Deckels ist hier vernachlässigt.

2. Die maximale tangentiale Zugspannung entsteht am unteren Reaktorende infolge des hydrostatischen Druckes

$$\sigma_{tan} = \frac{H \cdot D \cdot \rho \cdot g}{2s} = 2 \sigma_{ax}$$

Daraus berechnet sich die Vergleichsspannung (Gestaltänderungsenergiehypothese):

$$\begin{aligned} \sigma_v &= \frac{1}{\sqrt{2}} \sqrt{\sigma_{ax}^2 + \sigma_{tan}^2 + (\sigma_{tan} - \sigma_{ax})^2} \\ &= \frac{1}{\sqrt{2}} \sqrt{\sigma_{ax}^2 + 4\sigma_{ax}^2 + \sigma_{ax}^2} \\ &= \sqrt{3} \sigma_{ax} \end{aligned}$$

$$\sigma_v = 0.43 \frac{H \cdot D \cdot \rho \cdot g}{s}$$

$$\rightarrow \boxed{s = 0.43 \frac{H \cdot D \cdot \rho \cdot g}{\sigma_v} F}$$

Setzt man für σ_v die Spannung ein, bei der die Folie reißt und wählt für den Sicherheitsfaktor F einen Wert zwischen 4 und 8, so kann die notwendige Foliendicke abgeschätzt werden.

Beispiel:

$$\begin{aligned} \sigma_v &= 40 \text{ N/mm}^2 \quad (\text{Pa-Folie}) \\ F &= 5 \\ H &= 2 \text{ m} \\ D &= 200 \text{ mm} \\ \rho &= 1000 \text{ kg/m}^3 \\ g &= 9.81 \text{ m/s}^2 \end{aligned}$$

$$\rightarrow \boxed{s = 0.21 \text{ mm}}$$

Berücksichtigter Stand der Technik(als Anlage) :

- 1.ACHEMA-Bericht "Biotechnologie",
Chemie-Ing.-Techn. 54 (1982) Nr. 12, S. 1132-1138,
insb. S. 1135
2. P. Trotta, Elsevier 1980, S. 307-313, insb. S. 308.

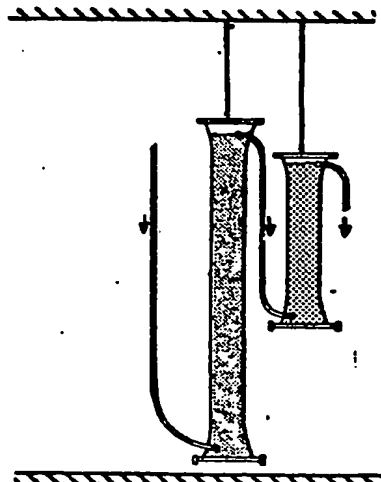


Fig. 1

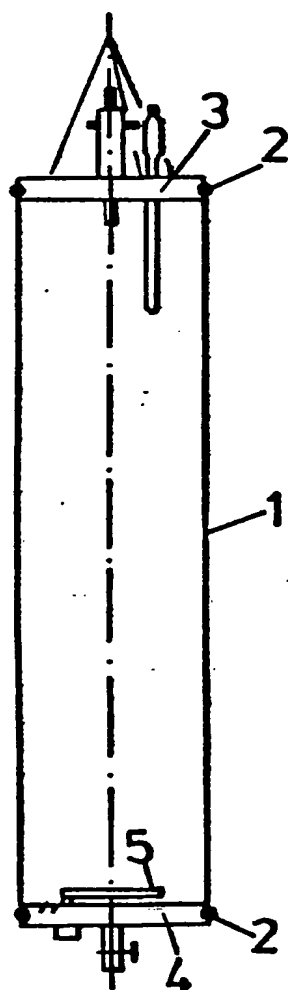


Fig. 2

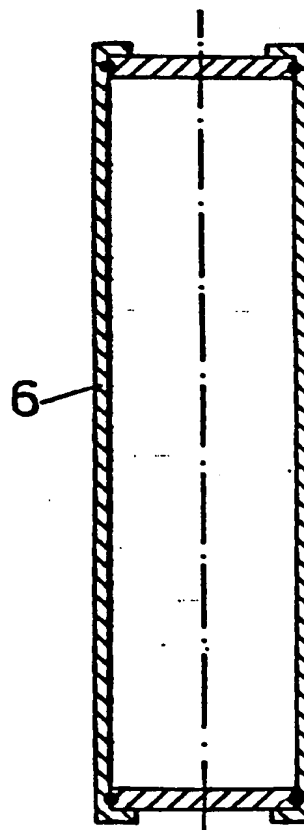


Fig. 3

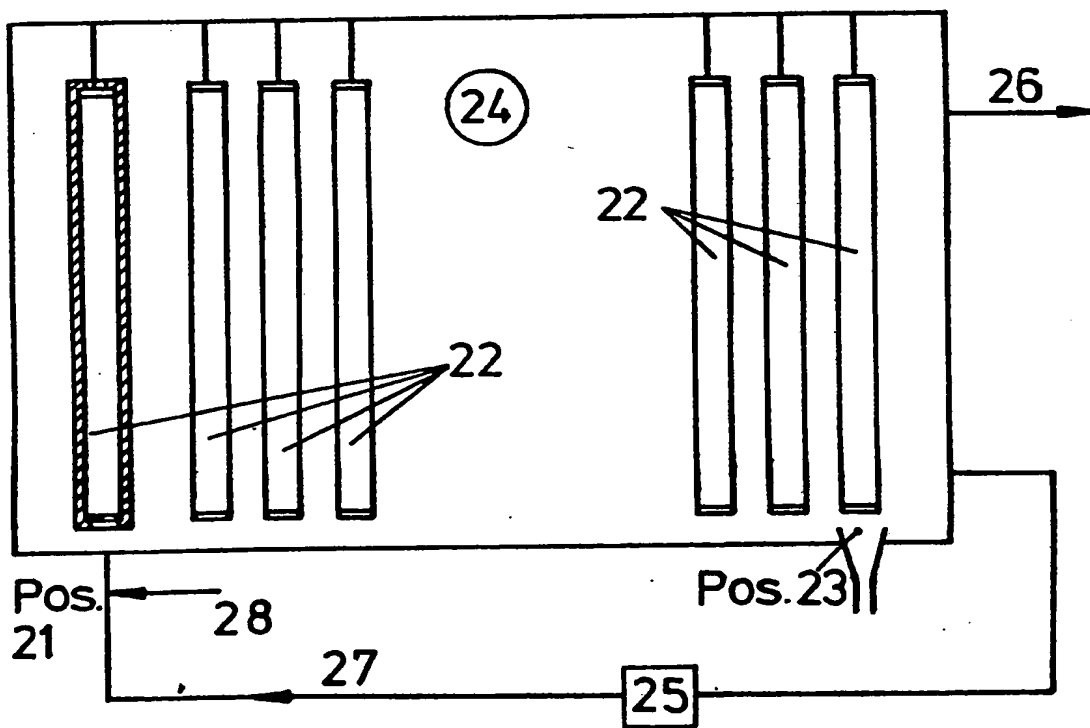
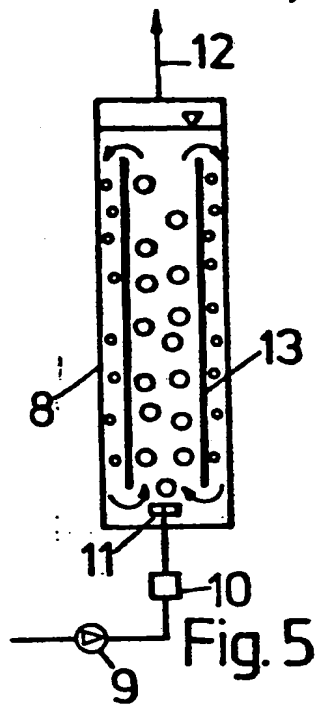
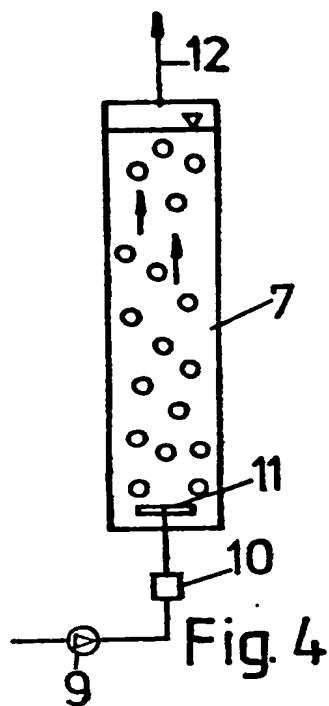


Fig. 6

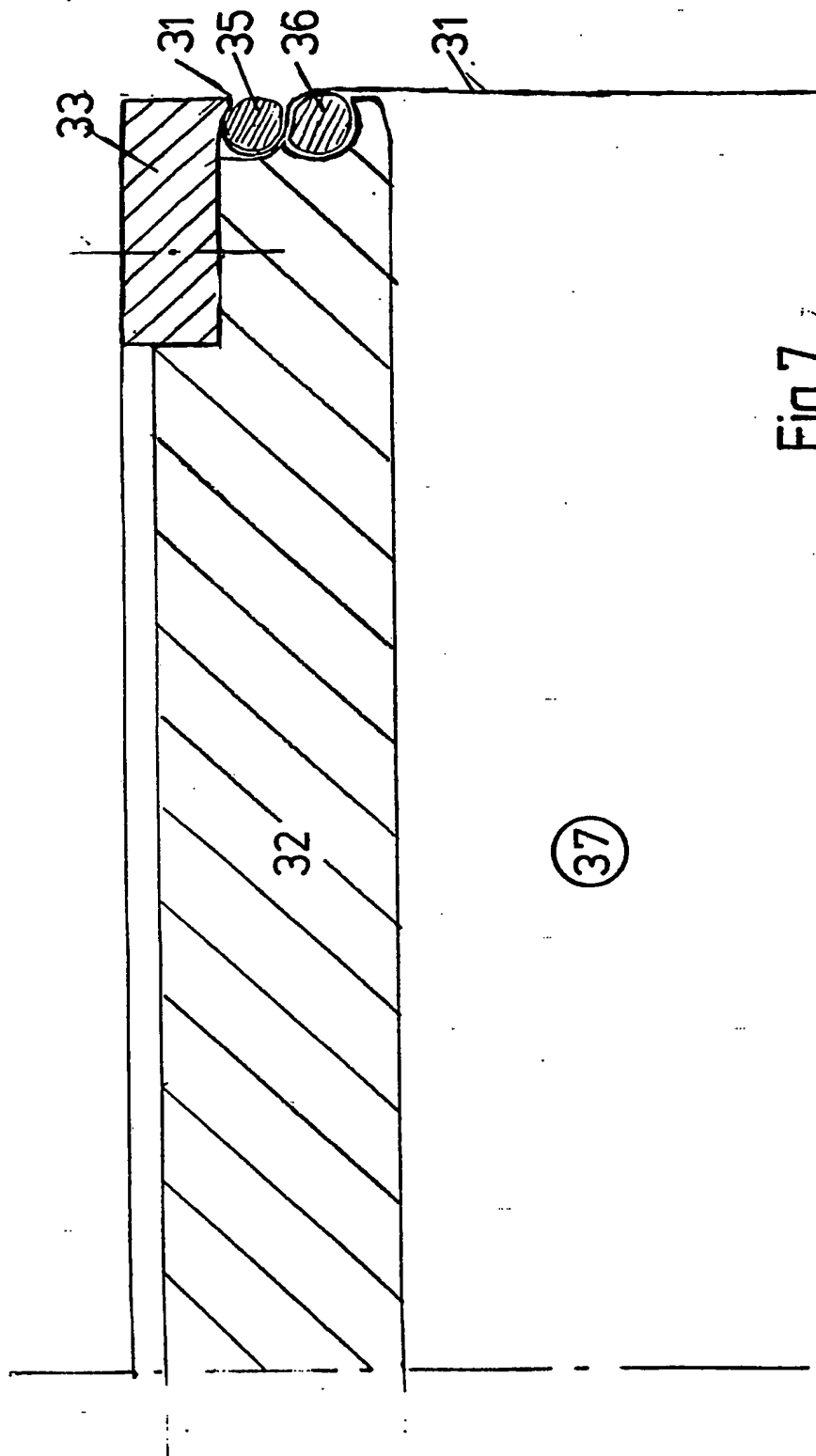


Fig. 7

3328712

-16. P 3328 712. Φ -41

